

München 1960.

BESTIMMUNGEN
VON FERMENTAKTIVITÄTEN
IN MALIGN ENARTETEM GEWEBE

Michael Kofi Kusi

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

BESTIMMUNGEN
VON FERMENTAKTIVITÄTEN IN
MALIGN EN TARTETEM GEWEBE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Michael Kofi Kusi

aus

Kumasi-Ampabame (Ghana)

München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent : Professor Dr. W. SEITZ

Dekan : Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 10. MAI 1960

Meinen lieben Eltern gewidmet



DISPOSITION

	Seite
Einleitung	1
Tumorstoffwechsel	1
Experimenteller Teil	4
1) Gewinnung des Materials	4
2) Aufarbeitung für optischen Test	5
Methodik der Fermentteste	7
Fermentteste - Prinzip und Durchführung	8
1) Aldolase	8
2) Milchsäuredehydrase	9
3) Glutaminsäureoxydase	10
Berechnung der Enzymaktivitäten	11
Ergebnisse	12
(1) Krankengeschichten	12
(2) Tabellen	20
Diskussion	25
Zusammenfassung	30
Literaturnachweis	31
Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

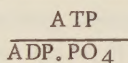
https://archive.org/details/IA41554020_0055

Zur Einleitung

TUMORSTOFFWECHSEL

Die Oxydation der Kohlenhydrate in der normalen Zelle in Anwesenheit von Sauerstoff führt zur Bildung von CO_2 und H_2O . Fehlt Sauerstoff, so baut die Zelle die Kohlenhydrate zu Milchsäure ab. Da die Energieausbeute für die Zelle bei der Oxydation wesentlich größer ist, benötigt sie dabei weniger Kohlenhydrate. Bei der Tumorzelle, die vorwiegend einen anaeroben Stoffwechsel hat, ist der Gesamtumsatz an Kohlenhydraten viel größer als bei der normalen Zelle. Dieser Umsatz verringert sich nur wenig bei Übergang von anaeroben Bedingungen auf aerobe, denn auch bei vorhandenem Sauerstoff baut die Tumorzelle eine große Menge Kohlenhydrate zu Milchsäure ab. O. Warburg berichtet, daß auch normales Gewebe und zwar embryonales Gewebe, Hirnrinde, Retina und tätiges Drüsengewebe eine aerobe Glycolyse aufweisen. Diese wird aber von der aeroben Glycolyse der Tumoren weit übertroffen.

Die Vorstellungen von F. Lynen (1) und Lipmann (2) über die Rolle der Phosphorylierungsprozesse und der Adenosintri-phosphorsäure (ATP^+) für den Zellstoffwechsel gestatten eine Erklärung für die aerobe Glycolyse und andere Eigentümlichkeiten des Tumorstoffwechsels. Lynen mißt dem System



eine besondere Bedeutung bei für zahlreiche oxydative und synthetische Prozesse, die mit der Energieversorgung, mit dem Nachschub von zelleigenen, für den Bestand der Zelle notwendigen Substanzen und mit dem Wachstum zusammenhängen. ATP ist die Phosphatquelle zur Phosphorylierung der Kohlenhydrate, um sie in dieser Form bei der Resorption und dem weiteren Abbau

⁺) Folgende Abkürzungen werden verwendet:

ATP = Adenosintri-phosphorsäure

ADP = Adenosindi-phosphorsäure

ALD = Aldolase

MDH = Milchsäuredehydrase

GsDH = Glutaminsäuredehydrase

GDH = Glycerophosphatdehydrase

FDP = Fructose-1-6-Diphosphat

TRAP = Tri-Aethanol-Aminopuffer

zugänglich zu machen. Beim Abbau der Kohlenhydrate wird darauf wieder ATP synthetisiert und so zurückgewonnen. Die Substratphosphorylierung ist unlösbar mit der jeweiligen Stufe des Kohlenhydrat-Abbaues verknüpft. Die Atmungskettenphosphorylierung dagegen kann "entkoppelt" werden, d. h. es ist auch ohne oder mit geringerer Phosphataufnahme und Bildung von ATP unter bestimmten Umständen die Funktion der Atmungskette möglich. Die normale Zelle benötigt laufend zur Aufrechterhaltung ihres Lebens eine gewisse Menge ATP, denn erstens sind ihre einzelnen Zellbausteine, Plasma- und Kerneiweiße einem ständigen Umsatz unterworfen und müssen ergänzt werden, zweitens spaltet eine spezifische ATP-ase laufend eine gewisse Menge ATP und drittens wird zur Einleitung des Kohlenhydrat-Umsatzes ATP benötigt. Die ATP-Resynthese bei dem oxydativen Prozeß spielt sich reibungslos ab auf Grund der hohen Phosphorylierungsrate bei der Atmungskettenphosphorylierung. Die Zelle enthält deswegen vorwiegend Phosphat in organischer Bindung. Es kann allerdings nur soviel Kohlenhydrat phosphoryliert werden wie anorganisches Phosphat verfügbar ist. Der Kohlenhydrat-Umsatz ist daher verhältnismäßig klein.

Thyroxin kann nach Martius (3) die Atmungskettenphosphorylierung entkoppeln. Damit sinkt der ATP-Nachschub und damit wird auch das Verhältnis ATP H_3PO_4 kleiner. Der Kohlenhydratumsatz wird erhöht. Da die normale Zelle über ein Oxydationssystem verfügt, das unter den gewöhnlichen Bedingungen beträchtliche Leistungsreserven enthält, wird auch diese größere Kohlenhydratmenge ohne Schwierigkeiten im Zitronensäurezyklus verbrannt.

Bei der Tumorzelle liegen bis zu einem gewissen Grade ähnliche Verhältnisse wie bei der normalen Zelle unter Thyroxin vor. Auch hier ist der $\text{ATP}/\text{H}_3\text{PO}_4$ -Quotient klein, da eine erheblich gesteigerte Aktivität der ATP-ase vorliegt, die aufgebautes ATP sehr schnell wieder spaltet. Potter (4, 5) stellte fest in Zusammenarbeit mit Liebl, daß in Neoplasmen sowie in vielen Geweben des Säugetieres eine hohe ATP-ase-Aktivität vorhanden ist. Sie führten in ihren Studien über die Glutaminsäuresynthese die Störungen auf den raschen Abbau des zur Synthese notwendigen ATP zurück. Wegen der rascheren Spaltung des ATP ist der Kohlenhydratumsatz sehr hoch, da anorganisches Phosphat reichlich im Milieu verfügbar wird. Bei der Tumorzelle ist aber das Atmungssystem unvollständig. Von Euler (6), später Greenstein (7) und auch Potter fanden einen Mangel an Cytochrom c. Auch der Gehalt an gelben Fermenten (8, 9), zu denen die Diaphorasen gehören, ist herabgesetzt. Auch der vorhandene Sauerstoff wird nicht verwertet, da er nicht genügend aktiviert werden kann. Die reichlich einströmende Brenztraubensäure kann nicht vollständig oxydiert werden. Es sammeln sich also Produkte der unvollständigen Oxydation, die

verschiedenen Carbonsäuren des Zitronensäurezyklus an. Außerdem wird noch ein Teil der Brenztraubensäure als Milchsäure ausgeschieden.

Die oben erwähnten Produkte der unvollständigen Oxydation werden von dem Tumorgewebe dazu verwendet, um neue Synthesen innerhalb der Zelle durchzuführen (Zamecnik, 10). Zamecnik konnte auch mit C^{14} markierter Glucose feststellen, daß Tumoren sehr viel Glucose umsetzen. Einen großen Teil der Glucose verwenden sie aber zum Aufbau von Aminosäuren. Er konnte vor allem Glutaminsäure, Asparaginsäure und Alanin als Träger des radioaktiven C^{14} isolieren. Diese entstehen aus Zwischenstufen des Zitronensäurezyklus, nämlich

Alanin aus Brenztraubensäure,
Glutaminsäure aus α -keto-Glutarsäure,
Asparaginsäure aus Oxalessigsäure.

Die intermediär auftretende Essigsäure ist in ihrer Form als "aktivierte Essigsäure", Acetyl-Coenzym A, auch als Baustein zur Synthese der Fette und des Cholesterin besonders bedeutsam. Bierich (11) konnte zeigen, daß in menschlichen Tumoren der Cholesteringehalt mit zunehmender Bösartigkeit ebenfalls zunimmt. Das Cholesterin ist als ein Produkt der unvollständigen Oxydation aufzufassen.

Neben der Oxydation u. Glykolyse verfügt die Tumorzelle also über einen dritten Weg, nämlich den Weg der Synthese, der die Substanzen für das Zellwachstum liefert. Die aerobe Milchsäurebildung ist dabei nur der äußere Ausdruck der unvollständigen Oxydation, eine Nebenreaktion, die für den beabsichtigten Effekt, das Wachstum, von untergeordneter Bedeutung ist.

Bei der Tumorzelle sind die Verhältnisse für Synthesen insofern günstig, als hier ein stark gesteigerter Kohlenhydrate-Umsatz auf ein wenig leistungsfähiges Atmungssystem trifft. Die Produkte unvollständiger Oxydation sammeln sich so besonders reichlich an. Dabei wird auch die Milchsäurebildung erhöht. Die unvollständige Oxydation ist für den Tumor charakteristisch.

Verschiedene Forscher (12, 13) haben sich mit der Frage beschäftigt, ob Tumoren auch bei Fehlen von Sauerstoff leben und eventuell wachsen können. Dabei wurde festgestellt, daß Tumoren auch noch eine geringe Sauerstoffkonzentration gut ausnutzen können. Erst bei einer Konzentration von 0,4 % Sauerstoff (14) zeigen nach einer gewissen Zeit nur noch sehr kleine Tumoren eine gewisse Zellvermehrung. Größere Tumoren bleiben lange Zeit am Leben, wenn genügend Glucose vorhanden ist, können aber nicht wachsen. Aus diesen Befunden kann man entnehmen, daß der Kohlenhydrate-Stoffwechsel nicht allein für die energie-

tische Versorgung der Zelle eine Rolle spielt. Darüber hinaus gewinnt die Zelle aus Zwischenstufen der Oxydation die Rohmaterialien für die Eiweißsynthesen.

Mit dem ständig zunehmenden Vorkommen des Carzinoms beim Menschen gewinnt die Krebsforschung immer mehr an Bedeutung. Im allgemeinen können häufig Enzymveränderungen als früheste Veränderungen in pathologischen Geweben festgestellt werden, so daß die Enzymbestimmungen als diagnostische Maßnahme immer wichtiger werden. Die menschliche Krebsforschung wäre außerdem undenkbar, wenn nicht die tumorösen Veränderungen der niedrigeren Säugetiere in gewisser Weise mit denen des menschlichen Organismus zu vergleichen wären. Für tierexperimentelle Untersuchungen eignet sich in vielen Fällen die Ratte besonders gut.

Die Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, in Zusammenarbeit mit einer größeren Arbeitsgruppe Fermentteste im Tumorgewebe durchzuführen. Und zwar wird im Gewebe von Rattenhepatomen und in frisch gewonnenem Operationsmaterial von menschlichen Tumoren die MDH als wichtigstes Ferment der Gärung, die ALD, die die Spaltung von Fructose-1-6-diphosphat in Dioxyacetonphosphat und Glycerinaldehydphosphat katalysiert, und die GsDH, deren Bedeutung nachfolgend erwähnt wird, getestet. Von einer anderen Arbeitsgruppe wird der Gehalt an ATP und DPN bzw. DPNH bestimmt.

EXPERIMENTELLER TEIL

1) Gewinnung des Materials

Das Hepatom der Ratte wird erzeugt durch Verfütterung von Buttergelb, 3-Methyl-4-Dimethylaminobenzol, an Ratten des BD III Stammes, der besonders auf Buttergelb anspricht. ⁺)

Die Tiere erhielten täglich 5 mg Buttergelb in Form eines selbst hergestellten Brotes entsprechend dem bekannten Latzfutter, das alle lebensnotwendigen

⁺) Herrn Prof. Druckrey, Freiburg, sind wir zu größtem Dank für die Überlassung der Hepatomtiere verpflichtet.

gen Zusätze enthält. Die Gesamtmenge an Buttergelb, die ein Tier im Laufe von ca. 160 Tagen aufnimmt, beträgt ungefähr 800 mg. Bis zum Auftreten eines ausgebildeten Hepatoms vergehen mindestens 200, meist aber 300 bis 350 Tage.

Das Material von frisch operierten Carzinomen erhielten wir aus der Chirurgischen Poliklinik und aus der Chirurgischen Klinik München ⁺⁺). Das Gewebe wurde sofort nach Entfernung aus dem Körper in Eiswasser gelegt, unmittelbar danach auf Filtrierpapier getrocknet, gewogen und für die Testung vorbereitet.

2) Aufarbeitung für optischen Test

Das Gewebe wurde im Filtrierpapier getrocknet und ca. 80 bis 100 mg abgewogen und mit aqua bidest. versetzt, so daß 100 mg in 8 ml aqua bidest. aufgenommen wurden. Vorversuche haben dieses Verhältnis als geeignet für die Enzymbestimmung erwiesen. Das Gewebe wurde dann im eisgekühlten Homogenisatorglas mit einem elektrischen Mikrohomogenisator ⁺⁺⁺) eine Minute homogenisiert. Das Material wird bei der Testung im Eisschrank bei 0° aufbewahrt.

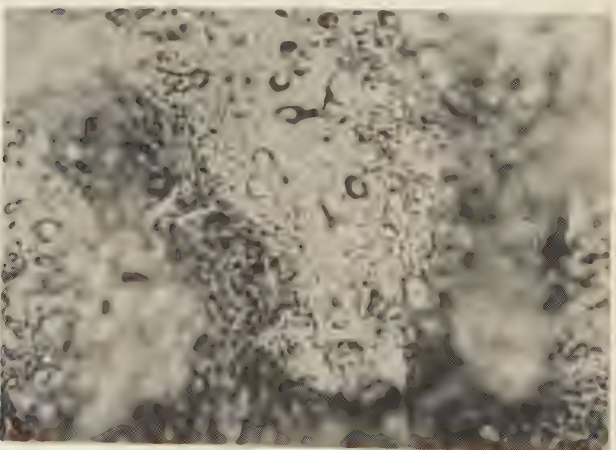
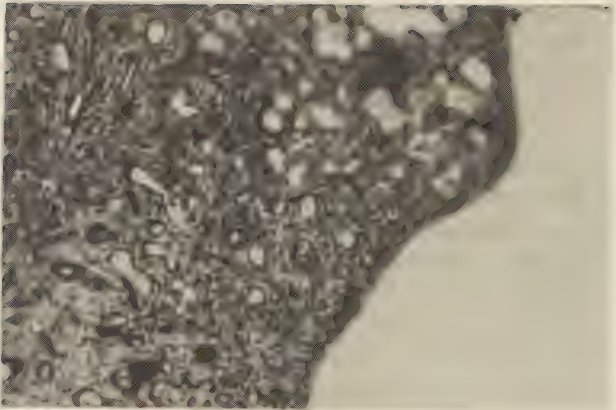
Rattenhepatomgewebe:

Die Ratten wurden durch Scherenschlag dekapitiert, um einen unnötigen Schock zu vermeiden. Die Leber wurde sofort entfernt und in Eisbehälter gebracht. Die weitere Behandlung verlief wie beim menschlichen Gewebe. Der Vorteil der Rattenhepatome als Tumorgewebe war dadurch gegeben, daß in manchen Fällen nur ein oder zwei Leberläppchen cancerös verändert waren und daneben häufig leicht verändertes oder nur praecanceröses Material des gleichen Tieres gewonnen und ebenfalls analysiert werden konnte.

Es wurde außerdem der Fermentgehalt normaler Ratten des gleichen Stammes getestet, wie auch bei dem menschlichen Operationsmaterial möglichst versucht wurde, makroskopisch gesundes Gewebe zu gewinnen, um Vergleichswerte zu erhalten.

⁺⁺) Für die großzügige Unterstützung unserer Versuche durch Überlassung des Operationsmaterials danken wir Herrn Prof. Bronner und Herrn Prof. Frey ergebenst.

⁺⁺⁺) Homogenisator für wissenschaftliche Zwecke der Firma E. Bühler, Tübingen.



Hepatom :

Verschiedene Schnitte
durch das gleiche Präpa-
rat: Weitgehend ent-
differenziertes Carcinoma
solidum mit hochgradiger
Kernpolymorphie und zahl-
reichen Mitosen.

ZUR METHODIK DER FERMENTTESTE

Die Fermentaktivitätsbestimmungen wurden durchgeführt nach der im Jahre 1935 von O. Warburg entdeckten Methode des optischen Testes. Warburg fand, daß die reduzierte Form der Codehydrase I = DPNH durch eine charakteristische Absorptionsbande im Ultraviolett bei 340 m μ ausgezeichnet ist, während das nicht hydrierte Coferment keine Absorptionsbande besitzt. Damit erschloß er die Möglichkeit, DPN-abhängige Reaktionen durch die Änderung der Lichtabsorption optisch zu verfolgen. Das DPN ist Coferment mehrerer Dehydrasen; es verbindet mit dem jeweiligen spezifischen Protein unter Bildung eines Komplexes, das dann mit dem dazugehörigen Substrat reagiert. Als Maß für die Enzymaktivität gilt die Geschwindigkeit der Zu- oder Abnahme der Lichtextinktion, d. h. also der Zu- oder Abnahme des DPNH. Aus dem gesamten System des Kohlenhydrat-Eiweißstoffwechsels sind mehrere enzymatisch gesteuerte Prozesse bekannt, die unter Mitwirkung des hydrierten Coferments DPN vor sich gehen. Zu diesen gehören:

1. Das oxydierende Gärungsferment oder Phosphoglyzerinaldehyddehydrase. Es katalysiert folgende Reaktion:



2. Die Milchsäuredehydrogenase reduziert Brenztraubensäure zu Milchsäure, wobei DPN-H oxydiert wird. Diese beiden Reaktionen bilden die Grundlage für die Oxydations- und Reduktionsvorgänge der Glykolyse. Mit Hilfe des optischen Testes lassen sich die Aktivitäten fast aller die Glykolyse bewirkenden Enzyme feststellen und zwar dadurch, daß die beiden oben beschriebenen Reaktionen mit anderen Reaktionen gekoppelt werden.
3. Die Glutaminsäuredehydrase bzw. Glutaminsäureoxydase ist deshalb von Bedeutung, weil sie die Verbindung zwischen Kohlenhydrat- und Eiweißstoffwechsel herstellt. Das Ferment katalysiert folgende Reaktion:

$$\text{Glutaminsäure} + \text{DPN} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \alpha\text{-Ketoglutarsäure} + \text{DPNH} + \text{NH}_3,$$
 also eine reduktive Aminierung als Umkehrung der oxydativen Desaminierung. Unter physiologischen Bedingungen liegt das Gleichgewicht ganz auf seiten der Glutaminsäure. Demnach muß das System im biologischen Milieu besonders geeignet sein zur Katalyse der in Richtung von rechts nach links verlaufenden hydrierenden Aminierung der α -Ketoglutarsäure.

DIE FERMENTTESTE - PRINZIP UND DURCHFÜHRUNG

Es wurden folgende Enzymaktivitäten untersucht:

Aldolase

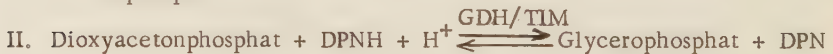
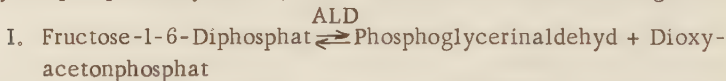
Milchsäuredehydrogenase

Glutaminsäuredehydrogenase bezw. Glutaminsäureoxydase.

In Versuchen einer anderen Arbeitsgruppe wurden DPN, DPNH und ATP-Gehalt der Gewebe getestet.

1) Aldolase

Die Aldolaseaktivität läßt sich nur in einem gekoppelten Test bestimmen, weil die spezifischen Reaktionen dieses Fermentes die Aufspaltung des Fructose-1,6-Diphosphates in Dioxyacetonphosphat und Glycerinaldehydphosphat nicht DPN-abhängig ist. Warburg und Christian (15) haben den Aldolasetest mit der Triosephosphatdehydrasereaktion gekoppelt; Bücher (16) sowie Leuthardt (17) haben einen anderen optischen Test angegeben, dessen Hilfsferment die Glycerophosphatdehydrase [†]) ist. Die Reaktion verläuft in folgender Weise:



Testansatz in einer 1 cm-Küvette

TRAP (pH 7,6) (980 mg/100 cm ³ Aqua bidest.)	2,62 ml
Trilon ⁺⁺) (1 %)	0,10 ml
GDH/TIM	0,03 ml
DPNH ₂ (c = 10)	0,05 ml
Homogenat (100 mg/8 cm ³ Aqua bidest.)	0,10 ml
FDP	<u>0,10 ml</u>
Gesamtvolumen	3,00 ml

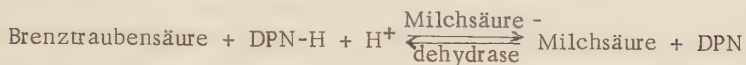
Der Test wird gestartet mit FDP.

[†]) GDH/TIM von Firma C. F. Boehringer & Söhne GmbH., Mannheim-Waldhof

⁺⁺) Trilon = Titriplex III, ein Dinatriumsalz der Aethylaminsäure, dient als Komplexbildner für etwa vorhandene Schwermetalle, die schon in Spuren Fermentreaktionen hemmen können.

2) Milchsäuredehydrase (MDH)

Die Milchsäuredehydrase katalysiert folgende Reaktion:



Wird einer Lösung, die Brenztraubensäure und DPN-H enthält, MDH zugesetzt, so läuft die Reaktion unter Bildung von Milchsäure und DPN vollständig von links nach rechts ab. Hess und Gehm (18) beobachteten ein Verschwinden der DPN_{red} Bande bei der Inkubation von 1 ml Serum in Trispuffer (Trimethoxyaminomethan), DPN_{red} und Brenztraubensäure bei pH 7,5 in einer Küvette im optischen Test entsprechend den Angaben von Warburg. Sie unterbrachen die Reaktion und enteweißten durch kristallisierte MDH, und bestimmten die Konzentration der Brenztraubensäure. Sie stellten fest, daß pro Mol Brenztraubensäure ein Mol $\text{DPNH} + \text{H}^+$ verbraucht wurde. Daraus ergibt sich, daß nach der folgenden Reaktion die Milchsäure entsteht.



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt auf der Seite der Milchsäurebildung. Damit läßt sich erklären, wieso in den Geweben gegenüber der Brenztraubensäure ständig ein Überschuß an Milchsäure besteht. Beim Ablauf des Prozesses in dem Testansatz verschwindet das hydrierte DPN und zeigt sich in der Abnahme der Extinktion bei $366 \text{ m}\mu$. Die Geschwindigkeit der Extinktionsabnahme ist das Maß für die Enzymwirksamkeit in dem Testansatz. Kubowitz und Ott (19), Hess und Gehm (20), Schwert und Hakala (21) haben optimale Testbedingungen angegeben. Der Test wurde nach Kubowitz mit kleinen Änderungen folgendermaßen durchgeführt:

In einer 1 cm-Küvette wurde folgender Ansatz einpipettiert:

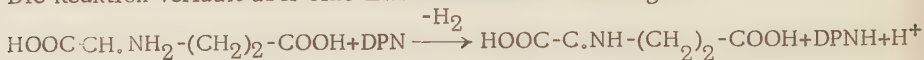
Aqua bidest.	1,20 ml
Na-Pyropuffer, m/10, pH = 8,3	1,00 ml
Na-Brenztraubensäure m/10	0,15 ml
DPN-H_2 (c = 10)	0,05 ml
Homogenat (100 mg/8 cm ³ Aq. bidest.)	<u>0,10 ml</u>
Gesamtvolumen	2,50 ml

Filter $366 \text{ m}\mu$

Gestartet wird mit dem Homogenat.

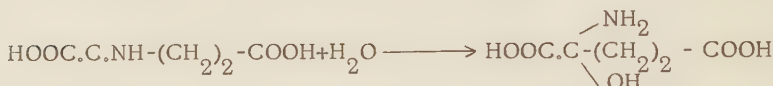
3) Glutaminsäureoxydase

Unter der katalytischen Wirkung dieses spezifischen Enzyms entsteht bei der oxydativen Desaminierung der Glutaminsäure die α -Ketoglutarsäure. Die Reaktion verläuft über eine Zwischenreaktion wie folgt:



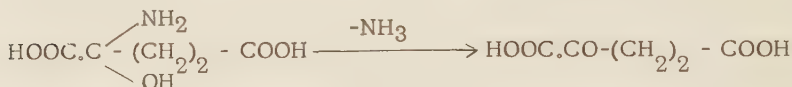
Glutaminsäure

Iminosäure



Iminosäure

Iminosäurehydrat



Iminosäurehydrat

 α -Ketoglutarsäure

Die Reaktion ist reversibel und verläuft unter physiologischen Bedingungen völlig in Richtung der Bildung von Glutaminsäure. Der Test enthält im Reaktionsmedium die zu testende Lösung, Ammoniumacetat als Quelle der für die Reaktion notwendigen NH_3 -Ionen, sowie Trilon als Komplexbildner für etwa vorhandene Schwermetalle. α -Ketoglutarsäure als Substrat wird im Überschuß zugegeben. Bei dieser Reaktion verliert das DPNH seinen Wasserstoff, so daß es zu einer Abnahme der Extinktion im Ultraviolett kommt.

Testansatz in einer 1 cm-Küvette

TRAP pH = 7,9 (980 mg/100 cm ³ Aqua bidest.)	2,05 ml
Trilon 1 %	0,15 ml
DPNH ₂ (c = 10)	0,05 ml
Ammoniacetat 3 m	0,05 ml
Homogenat (Gesamthomogenat 100 mg/8 cm ³ Aq. bid.)	0,10 ml
α -Ketoglutarsäure m/10	<u>0,10 ml</u>
Gesamtvolumen	2,50 ml

Filter 366 m μ

Gestartet wird die Reaktion mit Homogenat.

BERECHNUNG DER ENZYMAKTIVITÄTEN

Bei den Testen von ALD und Glutaminsäureoxydase tritt sofort eine Reaktion ein nach Einpipettieren der für den Test notwendigen Lösungen in der vorgeschriebenen Reihenfolge und nach Zusatz des Homogenats in den Testansatz. Beobachtet man diese Reaktion im Eppendorf-Photometer, so bemerkt man, daß die Extinktion zunächst sehr schnell abnimmt, um nach ca. 2-3 Minuten langsamer und konstant zu verlaufen. Diese sofort beginnende Reaktion ist auf das Vorhandensein von MDH zurückzuführen. Um diese MDH später eliminieren zu können, geht man so vor, daß man nach Zusatz des Homogenats ca. 3 Minuten wartet, dann die Reaktion 3 Minuten auf dem Photometer verfolgt und die mittlere Extinktion/Zeiteinheit feststellt. Erst dann wird das reaktions-spezifische Ferment hinzugefügt. Dies wäre der Start des Testes. Die Extinktion wird dann in Abständen von 1 Minute 10 Minuten lang abgelesen, um den regelmäßigen Ablauf der Reaktion zu verfolgen. Man mißt also die Extinktions-Differenz zwischen zwei Zeitpunkten $t_0 - t_{10}$.

Beispiel:

$$\text{Vorlauf: } E_{T_0} - E_{T_3} = E_a \text{ in 3 Minuten } ^+)$$

$$\frac{E_a}{3} = E \text{ in 1 Minute.}$$

$$E_{t_0}$$

$$E_{t_1}$$

$$\cdot$$

$$\cdot$$

$$\cdot$$

$$\cdot$$

$$E_{t_{10}}$$

$$\frac{E_{t_0} - E_{t_{10}}}{10} \text{ in 10 Min.} = \frac{E_{t_0} - E_{t_{10}}}{10} \text{ in 1 Minute}$$

$$\text{Eigentliche Extinktion } E = \frac{E_{t_0} - E_{t_{10}}}{10} \cdot \frac{E_a}{3}$$

$^+)$ E_{T_0} = Extinktion zu beliebigem Zeitpunkt T_0 etwa nach 3 Minuten nach Homogenatzusatz.

E_{T_3} = Extinktion ca. 3 Minuten nach T_0

Die Fermentaktivitätseinheit wurde berechnet nach der von Büchner für verschiedene Enzyme und Dehydrasen, die in gekoppelter Reaktion mit die- sen reagieren, angegebenen Aktivitätsdefinition. Danach ist eine Enzym- einheit diejenige Enzymmenge, die die DPNH-Extinktion bei 366 m μ in 100 sec. um 0,100 ändert (bei Schichtdicke 1 cm), d. h. 0,030 Mikromol DPN/cm³ Testlösung umsetzt.

$$\begin{aligned} \text{Also: } & \frac{100 \times \text{Testvolumen}}{\text{gestoppte Zeit in sec.} \times \text{Vol. Homogenat i. Test}} = \frac{\text{F. E/cm}^3}{\text{Homogenat}} \\ & = \frac{100 \times \text{Testvolumen}}{\text{gest. Zeit in sec.} \times \text{Vol. Homogenat}} \times \frac{8}{100} \quad \text{F. E/mg Gewebe, weil} \\ & \quad \text{8 mg Gewebe in 100 cm} \\ & \quad \text{homogenisiert wurden.} \\ & = \frac{\text{E} \times 100 \times \text{Testvol.} \times 8}{60 \times 0,1 \times 100} \quad \text{F. E/mg Gewebe.} \end{aligned}$$

ERGEBNISSE

Die Testbefunde des frisch operierten Tumormaterials sind nach den jewei- ligen Anamnesen angegeben und außerdem in einer Übersichtstabelle zusam- mengestellt. Das Operationsmaterial wurde auf Aldolase- und Milchsäure- dehydrase-Aktivität untersucht. Das Operationsgut bestand aus 12 bösartigen Magen-Darmtrakt-Tumoren (davon 8 Magen-, ein Sigma- und 2 Rectum-Tumoren, einem Adenocarcinom des Ductus cysticus, einem Bronchuscarcinom und einer Cholecystitis).

Die einzelnen Anamnesen und Verläufe sind kurz angegeben.

Pat. Nr. 28, männlich, 49 Jahre, Operation am 30.4.1958.

A.: Vater mit 76 Jahren an inoperablem Magen Ca, Mutter mit 52 Jahren an inoperablem Magen Ca gestorben. 7 (!!!) Geschwister der Mutter starben im Alter von 50-70 Jahren an Magen Ca, 3 davon operiert, eine Schwester der Mutter starb bereits mit 32 Jahren an einem Magen Ca. - Seit 3 Monaten Schluckbeschwerden, retrosternale Schmerzen, die in die rechte Schulter ausstrahlen.

Blut: BKS 3/10, Hb 90 %, Ery 4,22, FI 1,06, Leuko 10600.

Operationsbefund: Wellartiger Tumor (5x5 cm) mit zentraler Wucherung, derbe Ränder, teils zerfallend, Schleimhaut grob gefältelt.

Histologischer Befund: Dichte Infiltration der Magenwand durch ein drüsenbildendes Ca. Kernpolymorphie, Mitosen. Keine Metastasen im Lymphknoten und Oesophagus.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes Adeno Ca.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,224 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,194 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	1,89 FE/mg "
Norm. Gewebe	1,32 FE/mg "

Pat. Nr. 37, weiblich, 76 Jahre, Operation am 9.6.1958

A.: Seit 5 Wochen Nüchternschmerz, kein Erbrechen, kein Sodbrennen, saures Aufstoßen, Widerwillen gegen Fleisch, Druckgefühl im Oberbauch, chronische Obstipation seit Jahren, starke Gewichtsabnahme in den letzten 6 Monaten.

Blut: BKS 36/70, Hb 48 %, Ery 2,53, FI 0,94, Leuko 8900.

Operationsbefund: Der Magentumor nimmt das ganze Antrum ein und reicht bis zum Pylorus. Durch entzündliche oder tumoröse Infiltrationen hat er auf das Mesocolon transversum übergreifen. Die Leber ist von normaler Farbe und Konsistenz, keine Metastasen. Am Pankreas wahrscheinlich einige Metastasen.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Magenwandschichten in etwa 5-markstückgröße durch ein Typisch gebautes drüsenbildendes Ca. Deutliche Kernpolymorphie, reichlich Mitosen. In den angrenzenden Lymphknoten kein Tumorgewebe nachweisbar.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes Adeno Ca.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,244 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,180 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	1,51 FE/mg "
Norm. Gewebe	0,973 FE/mg "

Pat. Nr. 35, männlich, 59 Jahre, Operation am 26.8.1958

A.: Mutter mit 73 Jahren angeblich an Magenblutung gestorben. - Vor 20 Jahren hatte er erstmalig Magenbeschwerden, die aber auf Roha-Salz nach einigen Wochen wieder vergangen seien. Im Mai 1957 plötzlich wiederum 3 Wochen lang Magenschmerzen, die er wiederum mit Roha-Salz kurierte. Daraufhin bis vor 6 Wochen völlige Beschwerdefreiheit. Dann wiederum starke Bauchschmerzen und galligen Geschmack. Er habe einmal erbrochen. Essen könne er alles. Der Hausarzt habe ihn, da er auch an Gewicht verloren habe (ca. 8 Pfd.) geröntgt. Er habe angeblich "am Magen etwas gefunden". Seit 14 Tagen sei er nun wieder ohne Schmerzen.

Blut: HB 72 %, Ery 3,49 Mill., F. J. 1,02, Leuko 7200. BKS 21/48.

Rest-N 32,62 mg%, Serum-Eiweiß 5,64 %, Bilirubin 0,27 mg%.

Diastase 8 WE.

Operationsbefund: Ein sehr zellreiches, teils polypös wachsendes, teils alle Wandschichten bis zur Serosa infiltrierendes sehr zellreiches, größtenteils solid gebautes Drüsenzellencarcinom mit nur stellenweise noch angedeuteten adenoiden Strukturen, erheblicher Kernpolymorphie, sehr zahlreichen Mitosen und erheblicher entzündlicher lympho-leukocitärer Stromareaktion. Auch in den Randgebieten des Resektionspräparates eine sehr dichte Infiltrierung der Submukosa und der Muskulatur durch kleine Carcinomzellnester. Die Lymphdrüsen im anhängenden Netzgewebe zeigen einen starken resorptiven Endothelkatarrh, aber keine Metastasen. Auch die (unter II) und III)) gesondert mitgeschickten Lymphdrüsen aus dem Netz zeigen das Bild einer katarrhalischen Lymphadenitis, aber keine Tumormetastasen.

Diagnose: Infiltrierendes Drüsenzellencarcinom.

Fermentgehalt:

ALD

Tumorgewebe	0,180 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,176 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	1,15 FE/mg "
Norm. Gewebe	0,81 FE/mg "

Pat. Nr. 40, männlich, 67 Jahre, Operation am 3.9.1958

A.: 1914 Typhus abdominalis. 1943 verschüttet, dabei Knöchelbruch li. 1949 Lungenentzündung. 1951 Grippe, seither in Überwachung der Lungenfürsorge, 1952 sei eine Lungen-Tbc festgestellt worden. Im März 1958 Grippe. Sei danach gelb gewesen. Wegen Blutarmut und Gelbsucht am 26.3.58 stationär bis Anfang Mai behandelt. Am 5.8.58 bei der Arbeit plötzlich

"Nebel vor den Augen". Seit Wochen Magendrücken bei und nach den Mahlzeiten. Könne alles essen, nur weniger als früher. Fett wird gut vertragen. Keine Abneigung gegen Fleisch. Gewichtsverlust in den letzten 3 Wochen 3 kg. Nie Übelkeit, nie Erbrechen, nie Teerstühle. Stuhlgang sonst regelmäßig, Appetit schlecht. Zunehmendes Schwächegefühl. Miktio n o. B.

Blut: Hb 60 %, Ery 3,35 Mill., FJ 0,90, Leuko 4100, BKS 70/105, Gesamteiweiß 5,84 g%.

Operationsbefund: Am Magen tastet man einen gut faustgroßen Tumor in der Magenmitte, der auf der kleinen Curvatur fast bis zum Oesophagus hinaufreicht. Es befinden sich Drüsen im kleinen und im großen Netz, in letzterem in Höhe des Angulus, an der kleinen Curvatur in Magennähe. Die Drüsen sind zum Teil haselnußkerngroß und derb, zum Teil in Oesophagusnähe weich und dort grünlich (die anderen weißlich). Im freien großen Netz keine Drüsen feststellbar. Transversum o. B. Entlang der Bauchaorta keine Drüsen. Oesophagus im Abdomen frei.

Histologischer Befund:

- 1) Magenresektionspräparat, welches in allen Schichten durchsetzt ist von einem drüsigen, drüsigpapillären und drüsig-zystischen Carcinom. Mehrschichtigkeit des Epithels, reichlich pathologische Mitosen. Reaktive chronische Entzündung.
- 2) 3 Lymphdrüsen mit erhaltener Struktur, großen Rindenfollikeln, starker Hyperämie, weiten Sinus mit gewucherten Retikulumzellen, weißen und roten Blutkörperchen sowie Serum in den Sinuslichtungen. Keine Metastasen.
- 3) Oesophagusdrüse mit erhaltener Struktur, sehr weiten Sinus, die mit abgestoßenen Retikulumzellen und hämatogenen Wanderzellen ausgefüllt sind. Keine Metastasen.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,312 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,180 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	0,813 FE/mg "
Norm. Gewebe	0,516 FE/mg "

Pat. Nr. 38, weiblich, 55 Jahre, Operation am 27.8.1958

A.: 1948 seien durch den Frauenarzt Myome festgestellt worden, die aber keinerlei Beschwerden gemacht hätten. - Im Febr. 1958 allgemeine Müdigkeit und Schwäche. Der aufgesuchte Hausarzt habe eine Anämie festgestellt und mit Spritzen sowie Tabletten behandelt. Irgendwelche Schmerzen außer der Müdigkeit habe sie nicht gehabt, nur ab und zu Herzklopfen. Bis Anfang Juni

sei es ihr auf Grund der Behandlung besser gegangen und sie habe ca. 5 Pfd. an Gewicht zugenommen. Am 29. 7. 58 Brechdurchfall. Der Betriebsarzt habe sie zu einem anderen Arzt geschickt, der sie stationär wegen ihrer Anämie behandelte. Während der stationären Behandlung wurde Teerstuhl festgestellt, aber die Untersuchungen des Magen- und Darmtrakts ergaben keinerlei krankhaften Befund. 4 Bluttransfusionen wurden durchgeführt und Ferruminjektionen verabfolgt. Das Hb ist jetzt auf 80 %, die Ery auf 4,08 Mill. angestiegen. Blut: Hb 69 %, Ery 3,60 Mill., F.J. 0,98, Leuko 5350. Eiweiß 6,39 g%, Senkung 10/25.

Operationsbefund: Faustgroßer Tumor im rechten Oberbauch. Tumor mit Mesocolon verwachsen, gehört aber dem Duodenum an, und zwar der Pars descendens. Er ist allerdings auch fest mit dem Pankreaskopf verbacken. Bei der Untersuchung des kleinen Beckens findet man einen ziemlich großen myomatösen Uterus mit zahlreichen Knollen. Das Sigmoid ist mit dem Myom nicht verwachsen, sondern läßt sich von ihm abheben. In der Gegend des rechten Eierstockes ist ein faustgroßer rundlicher glatter Tumor, der sich gut verschieben läßt.

Histologischer Befund:

1) In der Gallenblase eine chronisch-entzündliche Bindegewebswucherung in allen Wandschichten mit herdförmiger Lympho-leukocyitärer Infiltrierung besonders des Schleimhautstromas. Im Bereiche der Serosa eine lebhaft fibrinös-leukocytaire Exsudation. Kein Tumorgewebe.

Diagnose: Subakute Cholecystitis.

2) Der Eierstocktumor besteht aus einem äußerst zellarmen hyalinentarteten und ikterisch verfärbten Bindegewebe mit sehr ausgedehnten Verkalkungen und umschriebenen metaplastischen Knochenneubildungen. Das Geschwulstgewebe ist im übrigen vollkommen regelmäßig gebaut.

Diagnose: Hyalinisiertes, teilweise ossifiziertes Fibrom. Für Malignität besteht keinerlei Anhalt.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	1,064 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,240 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	2,34 FE/mg "
Norm. Gewebe	1,10 FE/mg "

Pat. Nr. 33, weiblich, 59 Jahre, Operation am 18.7.58

A.: Seit ca. 1 Jahr fühlte sich die Pat. matt und müde. Durch den Hausarzt wurden Kreislaufstörungen festgestellt, Erholung in Italien. Hier Verschlimmerung, vor 7 Wochen stationäre Aufnahme in Meran. Erhebliche Anämie wurde festgestellt (Hb 30 %, Ery 2, 2).

Vor 4 Wochen eine stationäre Aufnahme. Röntgenologisch wurde ein Magengeschwür festgestellt. Die Pat. fühlte sich besser, immer noch müde und matt. Appetit gut, Stuhlgang mäßig. Keine Teerstühle. Kein Nüchternschmerz, keine Bauchschmerzen, kein Brechreiz, kein Fieber. Gewichtsabnahme in 10 Wochen 15 Pfund.

Blut: Hb 65 %, Ery 3, 17, F.J. 1, 03, Leuko 11800.

Serum Eiweiß 6, 01 %, Bilirubin 0, 35 g %.

Operationsbefund: Infiltrierend wachsendes, drüsenbildendes Carcinom, das sich im Antrumbereich ausbreitete mit zentral zerfallenden harten Rändern. Lymphknotenmetastasen konnten nicht nachgewiesen werden. Die durchgeführte B II-Reichel-Polya-Operation mit Blindverschluß des Duodenums wurde gut überstanden. Die Op.-Wunde heilte pp.

Histologischer Befund: Eine dichte Infiltrierung aller Wandschichten des Magens durch ein typisch gebautes, drüsenbildendes Carcinom. Der Tumor zeigt eine deutliche Kernpolymorphie und reichlich Mitosen. In der Umgebung eine dichte lympho-leukozytäre Infiltration. In den Lymphknoten keine Tumormetastasen nachweisbar.

Diagnose: Infiltrierend wachsendes drüsenbildendes Carcinom.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,376 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,225 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	0,98 FE/mg "
Norm. Gewebe	0,20 FE/mg "

Pat. Nr. 32, männlich, 54 Jahre, Operation am 14.7.1958

A.: Seit ca. 3 Wochen habe er Schmerzen im linken Unterbauch. Stuhl nur nach heftigem Pressen. Anfangs häufig Durchfälle, in letzter Zeit sei der Stuhl fingerdick, Patient habe daraufhin einen Arzt aufgesucht, der ihm nach einer röntgenologischen Untersuchung mitgeteilt habe, es handele sich um eine Darmverengung, die sofort durch eine Operation beseitigt werden müßte. Patient kommt aus diesem Grunde zur stationären Aufnahme.

Blut: BKS 15/36, Rest-N 27 mg%, Serumeiweiß 6, 57 %, Bilirubin 0, 525 mg%.

Operationsbefund: Infiltrierendes Adenocarcinom des Sigmoids.

Histologischer Befund: Dichte Infiltrierung aller Wandschichten des Dickdarms von der breit ulcerierten Schleimhaut bis zur Serosa durch große Nester eines zellreichen hochzylindrischen Adenocarcinoms. Der Tumor zeigt bei mäßiger Kernpolymorphie ziemlich zahlreiche Mitosen und eine lebhafte entzündliche lympho-leukocytäre Stromareaktion. Lymphdrüsen-Metastasen im anhängenden Fettgewebe konnten nicht nachgewiesen werden.

Diagnose: Infiltrierendes Adenocarcinom.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,348 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,288 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	2,97 FE/mg "
Norm. Gewebe	1,60 FE/mg "

Pat. Nr. 23, weiblich, 45 Jahre, Operation am 22.4.1958

A.: Großvater an Magen-Ca gestorben. - Seit 5 Jahren zeitweise Durchfälle bei ständigem Stuhldrang, Gewichtsverlust 4 kg.

Blut: Hb 51 %, Ery 2,98 Mill., FI 0,85, Leuko 8650.

Operationsbefund: Rectumcarcinom. Das kleine Becken ist von großen Lymphknoten durchsetzt, die Beckenfascie erscheint infiltriert. Leber frei von Metastasen.

Histologischer Befund: Rectumgewebe mit einem alle Wandschichten durchsetzenden adenopapillären Carcinom. In einer Lymphdrüse eine Metastase eines teils adenomatös, teils adenomatöscystischen und papillären Carcinoms mit ausgedehnten Nekrosen.

Diagnose: Adenopapilläres Carcinom mit ebensolcher lymphogener Metastase.

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	0,176 FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	0,116 FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	0,316 FE/mg "
Norm. Gewebe	0,156 FE/mg "

Pat. Nr. 25, weiblich, 61 Jahre, Operation am 25.4.1958

A.: 1927 Cholezystektomie. Seit 4 Wochen ziehende Schmerzen im rechten Oberbauch, unabhängig vom Essen, 4 kg Gewichtsverlust innerhalb 2 Wochen.

Blut: BKS 3/10, Hb 58 %, Ery 3, 31, FI 0, 87, Leuko 15100.

Operationsbefund: Tumorartiges, teils entzündliches Gebilde von Faustgröße, das den Magen von hinten nach vorn gedrängt hat. Die Magenvorderwand läßt sich in ein kraterförmiges Gebilde an der kleinen Kurvatur einstülpen.

Histologischer Befund: Hochgradig atypische infiltrierende drüsige Wucherung mit hochgradiger Kernpolymorphie und vielen pathologischen Mitosen.

Diagnose: Adeno Ca. (Gallenblase)

Fermentgehalt

ALD

Tumorgewebe	-	FE/mg Gewebe
Norm. Gewebe	-	FE/mg "

MDH

Tumorgewebe	1,66	FE/mg	"
Norm. Gewebe	1,18	FE/mg	"

Die Magen-Darm-Tumoren zeigten mit zwei Ausnahmen wesentliche Enzymaktivitätserhöhungen der Aldolase gegenüber dem makroskopisch normalen Gewebe.

WERTE DER FERMENTBESTIMMUNGEN

Tabelle 1

Menschliches Operationsmaterial

Nr.	Organ	Befund	ALD		MDH	
			Tumorgew. FE/mg Gew.	Norm. Gew. FE/mg Gew.	Tumorgew. FE/mg Gew.	Norm. G. FE/mg G.
28	Magen	Adeno-Ca. (präpylorisch)	0,224	0,194	1,89	1,32
37	Magen	Adeno-Ca. (Antrum-Pylorus)	0,244	0,180	1,510	0,973
31	Magen	Adeno-Ca.	0,212	0,284	1,15	0,960
34	Magen	Adeno-Ca. (Cardia)	0,288	0,168	1,34	1,12
35	Magen	Adeno-Ca.	0,180	0,176	1,15	0,810
39	Magen	Adeno-Ca. (Cardia)	0,184	0,200	0,376	0,046
40	Magen	Ca. (drüsig, drüsig-papill., drüsig-cystisch)	0,312	0,180	0,813	0,516
		Mittelwerte	0,235	0,197	1,174	0,802
38	Duodenum	Cholecystitis	1,064	0,240	2,34	1,10
33	Magen	Adeno-Ca. (Antrum)	0,376	0,225	0,980	0,200
32	Sigma	Adeno-Ca.	0,348	0,288	2,97	1,60
23	Rectum	Ca.	0,176	0,116	0,316	0,156
36	Rectum	Ca.	0,248	0,196	1,70	1,05
25	Chole- cysticus	Adeno-Ca.	-	-	1,66	1,18
30	Bronchus	Ca.	0,497	0,204	1,62	0,446

Bei MDH waren sämtliche Tumorwerte höher als im makroskopisch normalen Gewebe. Während das makroskopisch normale Magengewebe eine mittlere Aldolase-Aktivität von 0,197 FE/mg Gewebe und MDH-Aktivität von 0,802 FE/mg Gewebe aufwies, wurde im Tumorgewebe ALD-Aktivität von 0,235 FE/mg

Gewebe und MDH-Aktivität von 1, 174 FE/mg Gewebe festgestellt. Die MDH-Aktivität erhöht sich fast um die Hälfte des Wertes vom normalen Gewebe. Die Fermentaktivitätserhöhung betrifft allerdings auch eine Cholecystitis, die histologisch keinen Anhalt für maligne Entartung gab.

Es ist vielleicht zu erwähnen, daß unter den Patienten ein klassisches Beispiel für die Neigung zu familiärer Krebserkrankung gefunden wurde. Der Vater von dem carcinomkranken Patienten ist mit 76 Jahren an inoperablem Magencarcinom gestorben. Die Mutter ist auch mit 52 Jahren an inoperablem Magencarcinom gestorben. Sieben Geschwister der Mutter starben im Alter von 50 - 70 Jahren an Magencarcinom, drei davon operiert, eine Schwester der Mutter starb bereits mit 32 Jahren an einem Magencarcinom.

WERTE DER FERMENTBESTIMMUNGEN

Tabelle 2

Aldolase

Tumorratten				
Nr.	Tumorgewebe FE/mg G.	Praecan. Gewebe FE/mg Gewebe	Metacanc. Gew. FE/mg Gew.	Ges. Gew.
876	0,20	0,69	0,17	Tumor im Anfangs- stadium
9915	0,34	0,18	0,48	
2664	0,24	0,42	-	
1082	0,17	-	-	
3713	0,27	-	-	
3715	0,32	-	-	
Mittel- wert	0,25	0,43	0,32	

Gesunde Ratten	
Nr.	FE/mg Gewebe
1	0,328
2	0,672
3	0,666
4	0,570
5	0,310
6	0,608
7	0,422
Mittel- wert	0,511

Tabelle 3

Milchsäuredehydrogenase

Tumorratten				
Nr.	Tumorgewebe FE/mg	Praecan. Gewebe FE/mg	Metacanc. Gew. FE/mg	Ges. Gew.
876	5,18	9,28	4,00	Tumor im Anfangs- stadium
9915	5,72	8,52	8,80	
2664	1,92	4,40	-	
1082	1,26	-	-	
3713	3,86	-	-	
3715	5,20	-	-	
Mittel- wert	3,85	7,33	6,40	

Gesunde Ratten	
Nr.	FE/mg Gewebe
1	5,93
2	2,47
3	6,09
4	10,14
5	9,09
6	8,61
7	5,44
8	10,94
Mittel- wert	7,34

Tabelle 4

Glutaminsäureoxydase

Tumorratten				
Nr.	Tumorgewebe FE/mg	Praecan. Gewebe FE/mg	Metacan. Gewebe FE/mg	Ges. Gew.
876	0,43	1,29	0,13	Tumor im Anfangs- stadium
9915	0,84	0,90	0,96	
2664	0,23	1,16	-	
1084	0,18	-	-	
	0,04	0,05	-	
	0,32	-	-	
	0,36	-	-	
	0,46	-	-	
Mittel- wert	0,357	0,85	0,54	

Gesunde Ratten	
Nr.	FE/mg Gewebe
1	1,03
2	2,07
3	0,56
4	0,39
5	1,26
6	0,39
Mittel- wert	0,95

Bei der Untersuchung der Hepatome der Ratten wurde gefunden, daß bei allen drei Fermenten, ALD, MDH und GsDH, der höchste Wert der Aktivität in dem normalen Gewebe zu finden war, dann folgte das präcanceröse Gewebe und am niedrigsten war der Gehalt in dem voll ausgebildeten, auch histologisch gesicherten Tumorgewebe (Tabelle).

DISKUSSION

Die gefundene Erhöhung der Ferment-Aktivitäten bei menschlichen Tumoren deckt sich mit Befunden anderer Autoren. Die Enzymzusammensetzung des Tumorgewebes weicht in der Regel qualitativ nicht von der normaler Gewebe ab. Die Unterschiede zwischen Tumoren verschiedener Organe sind meist geringer als die individuellen Aktivitätsunterschiede in den entsprechenden normalen Gewebsarten. Wenn auch das Tumorgewebe gegenüber seinem Muttergewebe eher eingeschränkte enzymatische Eigenschaften zeigt (Greenstein), so ist dies Verhalten von Ferment zu Ferment verschieden, sogar manchmal von Untersuchungsergebnis zu Untersuchungsergebnis. Lenta und Riehl stellten eine Erhöhung der MDH-Aktivität in Tumorgeweben gegenüber gesunden Geweben fest. Sie benutzten Ratten mit transplantierten Tumoren (dbrB adenocarcinoma und sarkoma 180 und andere Gewebe, von deren MDH-Gehalt sie sich überzeugten). Sie fanden die höchste Aktivität in Skelettmuskulatur und Darmschleimhaut, die niedrigste Aktivität in Pankreas, Testis, Milz, Thymus, Lunge, Ovarien und Glandula submandibularis. Lenta und Riehl verwendeten transplantierte, durch Chloroform erzeugte Hepatome und fanden erhöhte MDH-Aktivität im Vergleich zu normalem Gewebe. Durch Azotoluene verursachte Hepatome hatten die gleiche MDH-Aktivität wie normales Gewebe. Die primären Lungentumorgewebe waren 5-7 mal so aktiv wie normales Lungengewebe, die Aktivität von Rhabdomyosarkomen etwa viermal schwächer als im Skelettmuskel. Die Aktivität für Thymom, Granulosazelltumor, Adenosarkom des Magens, und Myoepitheliom waren höher als in den entsprechenden gesunden Geweben.

Da Brenztraubensäure die unhydrierte Vorstufe von Milchsäure ist, sind die folgenden Befunde von Schmidt und Mitarbeiter (22) interessant. Sie arbeiteten an Ratten mit transplantiertem Tumor der Bauchhöhle und fanden keine wesentliche Zunahme an Brenztraubensäure im Blut kurz nach Injektion von Brenztraubensäure. Dieser Befund stimmte überein mit ihren eigenen Beobach-

tungen an tumorkranken Menschen. Sie versuchten, diese fehlende Beeinflussung des Blutes durch den transplantierten Tumor auf die wesentlich trägere Reaktion des Brenztraubensäurespiegels im Blut bei weißen Mäusen gegenüber chemisch-biologischen Einwirkungen überhaupt zurückzuführen. Der Brenztraubensäurespiegel zeigte sich sehr refraktär gegenüber Adrenalin. Selbst höhere Dosen, bei denen eindeutige pharmakologische Wirkungen wie Tachykardie und Streckstellung zu erwarten gewesen wären, ließen den Brenztraubensäuregehalt im Blut unbeeinflusst. Sogar eine Hyperglykämie änderte an diesem Festhalten des Brenztraubensäurespiegels auf annähernd normaler Basis nichts. Sie fanden an Ascitis-carcinom folgendes: Es wurden ziemlich große Brenztraubensäuremengen in der Ascitesflüssigkeit und damit im Tumor nachgewiesen. Die Konzentration in der Ascitesflüssigkeit überstieg am gleichen Tier häufig die des Blutes. Dies führt zu dem Gedanken, die Geschwulst könne vielleicht bei diesen Ascitesmengen dem Blut vorhandene Brenztraubensäure entziehen. Es mag dies folgendermaßen zu erklären sein: Der Ascites hat infolge seiner Beschaffenheit einen besonders innigen Kontakt mit dem Gefäßsystem. Er befindet sich in der freien Bauchhöhle und wird weiter infolge Peristaltik des Magendarmtraktes, sowie durch die Atmung und sonstige Bewegungen ständig mehr oder weniger "gemischt". Hinzu kommt die entzündliche Reaktion des Peritoneums, welche eine weitere Hyperämie der Bauchorgane bewirkt. Daraus folgt eine gute Austauschmöglichkeit zwischen Stoffen des Blutes und solchen des Carcinomascites. Schmidt und Mitarbeiter möchten deswegen annehmen, daß Stoffe, die ohne weiteres für energetische Zwecke Verwendung finden können, wie die Brenztraubensäure, begierig von den Ascitescarcinomzellen aufgenommen und dem Blut entzogen werden. Ihre leichte Verwertbarkeit durch den Tumorcites wurde dadurch bestätigt, daß ohne jeden Zusatz die ursprünglich vorhandene Brenztraubensäure in kurzer Zeit verschwindet, dies sowohl unter aeroben wie anaeroben Bedingungen.

Wird die Begründung des Nichtansteigens der Brenztraubensäure auf dieser Basis gesucht, so fehlt noch die Erklärung der Anreicherung der Brenztraubensäure im Ascites selbst. Nach seiner Meinung kann eine Störung des die Brenztraubensäure verarbeitenden Fermentsystems kaum vorliegen; die vorhandene Säure wird in vitro rasch zum Verschwinden gebracht. Dabei spielt die Anwesenheit oder Abwesenheit von Zucker keine Rolle. Schmidt beobachtete, daß Hormone an dem Zustand mitwirkten, denn Adrenalinzufuhr ließ den Brenztraubensäurespiegel im Ascites erheblich steigen. Unter Adrenalinwirkung pflegt die Brenztraubensäure im tierischen Organismus anzusteigen. Er bringt dies in Zusammenhang mit Mobilisierung des Muskel- und Leberglykogens und damit auch des vermehrten Angebotes seiner Abbauprodukte. Neben der

Erhöhung des Bluthrenztraubensäurespiegels findet man unter Einfluß des Nebennierenmarkhormons bekanntlich eine Hyperglykämie. Schmidt möchte jedoch annehmen, daß die Erhöhung nicht durch Erhöhung des Blutzuckers bedingt ist, vielmehr auch unabhängig davon geschehen kann. In gleicher Weise kann umgekehrt eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels ohne gleichzeitiges Ansteigen der Bluthrenztraubensäure eintreten. Er beobachtete derartiges an Menschen nach Belastung mit Traubenzucker. Die nach Adrenalingabe in Blut vermehrt erscheinende Brenztraubensäure wird nach ihm im wesentlichen ähnlich wie Milchsäure aus Glykogenabbau in Muskeln stammen. Auf die Ascitemaus übertragen würde es bedeuten, daß unter dem Einfluß von Adrenalin ebenfalls vermehrt Brenztraubensäure im Organismus auftritt, allerdings ohne daß sie sich in einer wesentlichen Erhöhung des Blutspiegels manifestiert. Die Brenztraubensäure wird ebenso intensiv von den Carcinomzellen aufgenommen und daher dort in größeren Mengen angetroffen. Diesem Gedankengang gegenüber steht die ungenügende Oxydation von Milchsäure, die als Folge von niedrigerer DPN-Konzentration (23, 24, 25), oder von Überschuß an DPNH aufgefaßt wird. Waravdekar et al (26) haben beobachtet, daß Leber von Tumorratten nur noch 50 % ihrer Fähigkeit für DPN-Synthese besitzen.

MDH wurde in Tumorgewebe von Meister vermehrt nachgewiesen. Hsieh, Zuntzeff und Cowdry (27) sahen einen Anstieg der Serumaktivität nach Tumortransplantation. Auch Hill und Levi (28) fanden bei Menschen mit Carcinom erhöhte Serumaktivitäten an MDH. Diese Befunde konnten von Luhrs und Negelein (29) nicht bestätigt werden. Warburg und Christian hatten MDH im Serum tumortragender Ratten untersucht und nicht vermehrt gefunden.

Glutaminsäureoxydase:

In der Literatur sind Angaben bekannt (30, 31, 32), daß der Spiegel für freie Glutaminsäure im Plasma tumortragender Menschen erhöht ist. Auch die Menge an freier Glutaminsäure in Hühnerembryo wurde erhöht nachgewiesen, wenn Neoplasma-Gewebe transplantiert wurde. Bei Menschen und Ratten führte man die Erhöhung der Glutaminsäure auf ungenügende Ausscheidung zurück. Glutaminsäure erscheint nur in geringer Menge im Harn, auch unter normalen Bedingungen. Der größte Teil wird über Harnstoffbildung, wie Stoßversuche zeigen, durch die Niere ausgeschieden. Es besteht jedenfalls die Möglichkeit einer Erklärung durch mangelhafte Sekretion; diese allein ist aber ungenügend (30, 32). Drei andere Prozesse müssen in Betracht gezogen werden, nämlich vermehrte Bildung von Glutaminsäure, erhöhtes Freiwerden von Aminosäure aus Eiweiß oder verminderte Ausnutzung. Die Feststellung, daß Hühnerembryonen eine Empfindlichkeit zeigen gegen Glutaminsäure, weist darauf hin, daß

diese Embryonen eine verminderte Fähigkeit besitzen, die Glutaminsäure auszunützen. Eine normale Ausnützungsmöglichkeit wäre über Harnstoff. Während der Inkubationszeit, wenn der Tumor im Ei rapid wächst, beobachteten Grace et al (33) eine Zunahme an freier Glutaminsäure mit Abnahme an Harn im Embryo. Kontrolltiere ohne Tumoren zeigen Abnahme freier Glutaminsäure und Zunahme an Harnstoff. Ihre Werte für Harnsäure nach einem Glutamat-Stoßversuch mit Hühnerembryonen und Tumorratten deuteten auf verminderte Produktion von Harnstoff aus Glutaminsäure. Aus diesen Ergebnissen schließen sie, daß verminderte Ausnützung die einzige Erklärung für die erhöhte Glutaminsäure in tumortragenden Organismen ist. Sie kombinierten die gleichfalls von ihnen beobachtete erhöhte Asparagin-Glutaminsäure-Transaminase mit ihren Ergebnissen der Asparagin-Stoßteste und schlossen daraus, daß die Anwesenheit von Neoplasma zu Vermehrung der Glutaminsäureproduktion führt. Entsprechend müßte die Glutaminsäureoxydase ebenfalls steigen.

Glutaminsäureoxydase-Aktivität konnte in Novikoff-Hepatoma (18) nicht nachgewiesen werden. Es ist sonst bekannt, daß das Enzym in den Kern- und Mitochondrienfraktionen der Leberzellen lokalisiert ist (18). Andere Studien weisen darauf hin, daß das Enzym einen Zusammenhang mit Glyconeogenese aus Protein (23) haben könne. Mit dieser Annahme könnte man die Abwesenheit von GsDH mit Funktionsausfall schließen wie bei Glucose-6-phosphatase, Uricase und Xanthinoxidase. Das Fehlen oder Verminderung des Fermentes in Lebertumorgewebe wäre mit einer Differenzierung der Mitochondrien gleichzusetzen.

Waismann et al fanden eine Aktivitätserhöhung in Leukozyten von Patienten mit Leukämie und Krebs und zwar waren die Aktivitäten in den verschiedenen Leukämieformen und beim Krebs ähnlich. Das heißt, daß bei Krebs die auftretenden Änderungen des Fermentpiegels auch bei Leukämien vorkommen können. Wegen der Verbreiterung der Glutaminsäureoxydaseaktivität kann dieselbe nicht als diagnostisches Kriterium für Leukämie und Krebs gebraucht werden (34).

Aldolase-Aktivität:

Einige Autoren haben bei ihren Untersuchungen eine Erhöhung der Aldolase-Aktivität im Tumorgewebe gefunden. Sibley und Fleischer (35) analysierten in 23 Fällen Operationsmaterial von Adenocarcinom des Colons und Rectums und fanden im Tumorgewebe eine höhere Aldolase-Aktivität als im mitentfernten gesunden Gewebe. Der Enzymgehalt der normalen Mucosa war gleich in allen Fällen, die Werte für die bösartigen Tumoren dagegen variabel. Nach der histologischen Struktur teilten sie die Gewebe in Gruppen. Das Gewebe des Carci-

nom I war mucosaähnlich und bestand wie in der normalen Mucosa fast nur aus Epithelzellen. In diesen Fällen fanden sie eine Aldolase-Aktivität im Tumorgewebe, die sechsmal höher war als im normalen Gewebe (35). Bei den Tumoren höheren Grades befand sich ein hoher Anteil von Bindegewebe zwischen den Parenchymzellen. Der Aldolasegehalt von Bindegewebe ist aber bekanntlich wesentlich niedriger als der des Parenchyms. Durch Umrechnungen korrigierten sie den eigentlichen prozentualen Anteil an Parenchym. Es ergab sich daraus ein hoher Gehalt an Aldolase im eigentlichen Tumorparenchym, der etwa zwei- bis dreimal höher als im normalen Gewebe war. Diese amerikanischen Autoren nahmen an, daß die Umwandlung der normalen Zelle in die Krebszelle mit der Erhöhung der Aldolase einhergeht. Es ist weiterhin angenommen worden (36, 37, 38), daß die Erhöhung der Aldolase-Aktivität eine Folge des Zellzerfalls im Tumor sei, daß die Aldolase-Erhöhung kein spezifisches Merkmal des Tumorgewebes bedeutet. Die Arbeit von Bruns (39), der bei Hepatitis epidemica ebenfalls eine starke Erhöhung der Aldolase-Aktivität fand, ließ den Schluß auf Zerfall als Ursache zu. Warburg und Christian (40) beobachteten eine Erhöhung der Aldolase-Aktivität im Serum tumortragender Ratten. Auch Siebley und Lehninger (41) konnten diesen Befund mit einer anderen Methode bestätigen. Während sie die Erhöhung in Aldolase-Aktivität in allen Tumor-Ratten regelmäßig beobachteten, gelang die Feststellung im Serum von nur 20 % der tumorkranken Menschen. Hinsberg und Mitarbeiter (42) stellte eine stark erhöhte Aktivität der Serum-Aldolase fest bei Tieren mit Ascitestumor, sogar noch höher als die Ergebnisse von Kun et al (43). Der erhöhte Aldolase-Gehalt des Serums bei Tumorzellen wird durch Enzymverlust der Tumorzellen erklärt, denn die Versuche von Hinsberg und Mitarbeiter ergaben ein Gleichgewicht zwischen den Fermentproteinen im Serum und im Ascitesplasma. Die Autoren versuchten dies Argument zu erhärten mit der weiteren Beobachtung, daß bei häufigem Waschen des Tumors mit physiologischer Kochsalzlösung oder Ringerlösung immer wieder Aldolase an die Waschflüssigkeit abgegeben wurde.

Es ist oben erwähnt worden, daß die Aktivität aller drei Fermente im Tumorgewebe der Ratten wesentlich niedriger waren als im normalen Gewebe, im menschlichen Tumor jedoch höher (nur MDH und ALD wurden getestet) im gut entwickelten Gewebe. Es wäre anzunehmen, daß die niedrigeren Ferment-Aktivitäten in den Tumorzellen der Ratten durch Fermentverlust an das Serum oder an den Ascites zustande kämen. Dieser Schluß muß aber offen bleiben, da keine Kontrollversuche an Seren durchgeführt wurden. Wenn man annimmt, daß bei Ratten Enzyme aus Tumorzellen in das Blut oder Ascites eher austreten als bei Menschen, dann müßte ein Faktor da sein, der diesen Übertritt in Ratten begünstigt bzw. in Menschen behindert. Dieser Faktor kann nicht Zellzerfall allein sein, weil die

bearbeiteten Rattentumorgewebe nicht viel nekrotischer waren als die menschlichen Tumorgewebe.

ZUSAMMENFASSUNG

In Zusammenarbeit mit einer größeren Arbeitsgruppe wurden Fermentteste im Tumorgewebe durchgeführt. Und zwar wurden im Gewebe von künstlich erzeugten Rattenhepatomen und in frisch gewonnenem Operationsmaterial von menschlichen Tumoren die Milchsäuredehydrase, die Aldolase und die Glutaminsäuredehydrase getestet. Die im Jahre 1935 von O. Warburg entdeckte Methode des optischen Testes wurde angewandt. Gemessen wurde die Abnahme der Lichtextinktion des hydrierten DPN bei der Wellenlänge $366\text{ m}\mu$ und der Schichtdicke 1 cm.

Die Magen-Darm-Tumoren zeigten mit zwei Ausnahmen wesentliche Enzymaktivitätserhöhungen der Aldolase gegenüber dem makroskopisch normalen Gewebe. Bei Milchsäuredehydrase waren sämtliche Tumorwerte höher als im makroskopisch normalen Gewebe. Die Fermentaktivitätserhöhung betrifft allerdings einen Fall von Cholecystitis, die histologisch keinen Anhalt für maligne Entartung gab.

Bei der Untersuchung der Rattenhepatome wurde gefunden daß bei allen drei Fermenten Aldolase, Milchsäuredehydrase und Glutaminsäuredehydrase, der höchste Wert der Aktivität in dem normalen Gewebe zu finden war, dann folgte das präcanceröse Gewebe und am niedrigsten war der Gehalt in dem voll ausgebildeten, auch histologisch gesicherten Tumorgewebe.

LITERATUR

- 1) Lynen, F. und R. Koenigsberger
Liebigsanals 573, 60 (1951)
Naturwiss. 30, 398 (1942)
- 2) Lipmann, F. Adv. Enzymol 1, 99 (1941)
- 3) Martius Vortr. in Heidelberg (Febr. 1952), nach Lettré zitiert
aus "Advances in Enzymology"
- 4) Potter, V.R. Cancer Res. 565 (1951)
- 5) Potter, V.R. and Liebl, G.J.
Biokatalysts in cancer tissue.
V. Adenosinetriphosphatase, Cancer Res. 5:
18-20 (1945)
- 6) Euler, v., Schlenk, Heiwinkel und Högborg
Hoppe-Seylers Z. 256, 208 (1938)
- 7) Greenstein J.P.
Biochemistry of Cancer, New York:
Academic Press Inc. (1947)
- 8) Warburg, O. Biochem. Z. 298, 151 (1938)
- 9) Shack, J. J. Nat. Canc. Inst. 3, 369 (1943)
- 10) Zamechnik P.C., R.B. Loftfield, M.L. Stephenson and
J.M. Steele Cancer Res. 392 (1951)
- 11) Bierich, Detzel und Lang
Z. physiol. chem. 201, 157 (1931)
Bierich und Lang
Klin. Wschr. 667 (1936)
- 12) Wind Biochem. Z. 179, 384 (1926)
- 13) Mider (Rochester, N. Y., USA)
Persönliche Mitteilung an H. Lettré, aus "Advances
in Enzymology"

- 14) Hirsch, H.H. Über den Tumorstoffwechsel
Z. für Krebsforschung, Bd 58, S. 651 (1951-52)
- 15) Warburg, O. und W. Christian
Biochem. Z. 314, 399 (1943)
- 16) Beisenherz, G., J.H. Boltze, Th. Bücher, R. Czock, K.H. Gaborde,
E. Meyer-Arend und G. Peleiderer
Z. Naturforschung 8b, 555 (1953)
- 17) Leuthardt, F. und H.P. Wolf
Helv. chem. Acta 37, 1734 (1951)
- 18) Hess B. und E. Gehr
Klin. Wo. Schr. 33, 91 (1955)
- 19) Kubowitz, F. und P. Ott
Biochem. Z. 314, 394 (1943)
- 20) Hess B. und E. Gehr
Klin. Wo. Schr. 33 (1955)
- 21) Schwert, G.W. and M. T. Hakala
Arch. Biochem. 38, 55 (1952)
- 22) Schmidt Hans W.
Untersuchungen über den Brenztraubensäuregehalt
im Blut und Tumor bei Ascitescarcinom-Mäusen,
Z. f. Krebsforschung 54, 171-188 (1944)
- 23) Allard, Lamirande und Cantero
Behavior of Enzymes in Liver of starved rats,
Exper. Cell Research
- 24) Krebs, H.A. Metabolism of amino-acids.
IV The Synthesis of Glutamin from glutamic acid
and ammonia and the enzymic hydrolysis of glu-
tamine in animal tissues.
Biochem. T. 29 (1935)
- 25) Carter, C.E. and Greenstein, J.P.
Acceleration of enzymatic desamidation of
glutamin by several inorganic anions.
J. Nat. Cancer Inst. 7 (1947)

- 26) Errera, M. Liver glutaminases.
T. Biol. chem. 178, S. 483-493 (1949)
- 27) Hsieh, Zuntzeff and Cowdry
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 89, 627 (1955)
- 28) Hill, B. R. and C. Levi
Cancer Res. 14, 513 (1954)
- 29) Löhrs, J. H. and F. Wroblewski
Arch. intern. Med. 99, 245 (1957)
- 30) Bieton, J. R., McGanity, W. J. and McHenry, E. W.
Plasma Glutamic Acid Levels in Malignancy.
Canad. M. Assoc. J., 65, 219-21 (1951)
- 31) White, J. M., G. A. L. Ross and E. W. McHenry
The Effect of Rat Liver Carcinomas growing in the
Yolk Sacs of Chick Embryos on the free Glutamic acid
and Glutamine content of the Eggs
Cancer Res. 14, 173-74 (1954)
- 32) White, T. M., J. R. Beaton and E. W. McHenry
Observations on Plasma Glutamic Acid.
J. Lab. & Clin. Med. 40, 703-6 (1952)
- 33) White, J. M., Ozawa Grace, G. A. L. Ross, E. W. McHenry
An Effect of Neoplasm on Glutamic acid Metabolism
in the Host. Cancer Res. 14, 508 (1954)
- 34) Waisman, H. A., Car. Monder, Jr. J. N. Williams
Glutamic Acid Dehydrogenase and Glutamic-oxalacetic,
Transaminase of Blood in Leuk. and Cancer
- 35) John A. Sibley and Gerard A. Fleischer
Cancer Research 15 (1955)
- 36) Sibley, J. A., G. A. Fleischer and G. M. Higgins
Significance of the Level of Serum-Ald in Tumor
bearing Animals.
Cancer Research 15, 306-14 (1955)
- 37) Sibley, J. A., G. A. Fleischer and G. M. Higgins
Serum-Ald. in expt. Liver Nekrosis
A. M. A. Arch. Path. 59, 712-16 (1955)

- 38) Warburg, O. und Hiepler
 Versuche mit Ascites-Tumorzellen.
 Zschr. Naturforschung 7b, 193-94 (1952)
- 39) Bruns, F. Habil.Schr. Düsseldorf (1953)
 Bruns, F. und W. Puls
 Klin.Wschr., Düsseldorf (1953)
 Bruns, F. Biochem.Z. 325, 532 (1954)
- 40) Warburg, O. und W. Christian
 Gärungsfermente im Blutserum von Tumorratten.
 Biochem.Zschr. 314, 399-408 (1943)
- 41) Sibley J.A. and Lehninger, A.L.
 Aldolase in the Serum and Tissues of Tumor
 bearing Animals.
 J.Nat.Cancer Inst. 9, 303-9 (1949)
- 42) Hinsberg, K., F. Bruns, W. Geinitz, W. Schild und H. Wüst
 Zschr. für Krebsforschung 60, S.73-79 (1954)
- 43) Kun, E.P., Talalay and H.G. Williams-Ashman
 Cancer Res. 11, 855 (1951)

Die vorliegende Arbeit wurde im Isotopenlabor der Medizinischen Universitätsklinik München ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht hier ein Wort des aufrichtigen Dankes an Frau Dr. Dr. von Brandt, der Leiterin des Isotopenlabors, anzufügen, die mir bei der Durchführung der Experimente und Zusammenholen der Literatur Hinweise gab.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Woller, die mich in die Methodik aller drei Fermente einführte.

Ich verfehle nicht, Frl. von Kutchenbach, Laborassistentin des Isotopenlabors, die mir die histologischen Präparate anfertigte und Herrn Dr. med. Schmidt des Anatomischen Instituts der Universität, der die photographischen Abbildungen machte, meinen Dank auszusprechen.

Lebenslauf

Am 24. April 1934 kam ich zur Welt als zweites Kind meines Vaters Kwasi Forh und seiner Ehefrau Abena Anhwere zu Kumasi-Ampabame (Ghana). 1947-51 besuchte ich die "Achimota secondary School" bei Accra, der Hauptstadt Ghanas. Nach meinem "Cambridge School Certificate", einer dem deutschen Abitur entsprechenden Prüfung 1951 durfte ich mit einem Stipendium des Ghana-Staates Naturwissenschaft (Zoologie, Botanik, Physik und Chemie) in Ghana studieren als weitere Vorbereitung auf mein Medizinstudium. Im Sommerhalbjahr 1954 begann ich das Medizinstudium in Tübingen, nachdem ich an einem deutschen Sprachkurs mit Erfolg teilgenommen hatte. Ich bestand das Physikum im Sommerhalbjahr 1956 in Tübingen. Seit dem darauffolgenden Semester studierte ich in München. Im Herbst 1959 meldete ich mich zum medizinischen Staatsexamen.

